

# IDENTIFIKASI ALUR-GALUR PADIMUTAN INSERSI TOLERAN DAN RENTAN CEKAMAN SALINITAS BERDASARKAN KARAKTER MULTIVARIAT PERTUMBUHAN DAN BIOKIMIA PADA FASE VEGETATIF<sup>1</sup>

[Identification of Salt Tolerance and Salt Sensitivity of Insertional Mutant Rice Lines  
Based on Multivariate Growth and Biochemical Characters at Vegetative Stage]

Apriadi Situmorang<sup>01</sup>, Anky Zannati, Dwi Widyajayantie dan Satya Nugroho

Pusat Penelitian Bioteknologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia  
Jin Raya Bogor Km 46 Cibinong 16911; Telp: (021) 8754587 Fax: (021) 8754588  
"e-mail: apriadi\_situmorang@yahoo.co.id

## ABSTRAK

Penelitian ini mengamati perbedaan karakter pertumbuhan dan biokimia 33 galur padi mutan pembawa *activation-tag*. Padi kultivar nipponbare, IR29 dan Pokkali digunakan masing-masing sebagai kontrol isogenik, sensitif dan toleran. Tanaman ditumbuhkan pada larutan Yoshida dengan kandungan NaCl (6 g/l) sebagai perlakuan stres dan di larutan Yoshida tanpa garam sebagai perlakuan kontrol. Evaluasi ketahanan terhadap cekaman dilakukan pada 21 hari setelah salinisasi. Hasil pengamatan menunjukkan terdapat perbedaan signifikan diantara galur-galur yang diuji pada karakter reduksi tinggi tanaman, panjang akar, bobot segar tajuk, bobot segar akar, bobot kering tajuk dan juga bobot kering akar. Pada karakter biokimia terdapat perbedaan signifikan yaitu reduksi konsentrasi klorofil-a dan klorofil-b, total karotenoid dan akumulasi prolin. Berdasarkan karakter multivariat pertumbuhan dan biokimia galur T3.PMO.VI.63.5a.30.9, T3.PMO.VI.30.1a.21.1, T3.PMO.VI.63.5a.33.7, F3.PUR.IX.49.1d.1.6.5, T3.PMO.VI.81.3a.4.4, F3.PUR.IX.49.1d.1.6.5, and F3.PUR.VIII.5.1f.1.4.8 diduga merupakan galur sensitif salinitas sedangkan T3.PMO.VI.30.1a.107.7, T3.PMO.VI.63.5a.20.6, T3.PMO.III.4.4c.7.2, and T3.PMO.VI.30.1a.51.1 diduga merupakan galur toleran cekaman salinitas.

**Kata kunci:** Padi, toleran cekaman salinitas, rentan cekaman salinitas, mutant insersi, karakter pertumbuhan, karakter biokimia.

## ABSTRACT

Growth and biochemical characters of thirty-three Nipponbare-based rice mutant lines independently harboring activation-tag in salt stress condition were investigated. Rice cv Nipponbare wild type, IR29 and Pokkali were used as isogenic, susceptible, and tolerant cultivars, respectively. Plants were grown in Yoshida nutrient solution containing NaCl (6 g/l) as the stress treatment and in Yoshida nutrient solution without NaCl as the control. Evaluation of salt tolerance was conducted at 21 days after salinization. The results showed that there was a significant difference in growth characters among genotypes in reduction of the plant height, root length, shoot fresh weight, root fresh weight, shoot dry weight, as well as in the root dry weight. Biochemical characters of the genotypes also showed significant difference in their reduction of chlorophyll-a and chlorophyll-b concentrations, total carotenoids and proline accumulation. Based on multivariate growth and biochemical characters, T3.PMO.VI.63.5a.30.9, T3.PMO.VI.30.1a.21.1, T3.PMO.VI.63.5a.33.7, F3.PUR.IX.49.1d.1.6.5, T3.PMO.VI.81.3a.4.4, F3.PUR.IX.49.1d.1.6.5, and F3.PUR.VIII.5.1f.1.4.8 were assumed as potential salt-tolerant lines, respectively, while mutant lines T3.PMO.VI.30.1a.107.7, T3.PMO.VI.63.5a.20.6, T3.PMO.III.4.4c.7.2, and T3.PMO.VI.30.1a.51.1 were assumed as salt-susceptible lines respectively.

**Keywords:** Rice, salt tolerance, salt sensitive, insertional mutant, growth characters, biochemical characters.

## PENDAHULUAN

Kandungan garam yang tinggi pada tanah merupakan salah satu faktor lingkungan yang menghambat produktivitas tanaman khususnya yang rentan terhadap kondisi salin. Lebih dari 800 juta hektar lahan di seluruh dunia merupakan lahan yang terkontaminasi oleh garam (FAO, 2008). Secara alami, tanah salin terjadi bila hujan yang membawa kandungan garam jatuh pada lahan terbuka. Saat air menguap, garam tetap tinggal di tanah sehingga akhirnya terakumulasi. Pada umumnya air hujan mengandung 6-50 mgNaCl/kg air (Munns and Tester, 2008). Selain itu, pelapukan bebatuan garam yang umumnya

melepaskan natrium klorida juga akan meningkatkan salinitas lahan pertanian (Szabolcs, 1989). Di lain sisi, penggundulan hutan adalah tindakan manusia yang mengakibatkan tanah salin. Kondisi hutan yang gundul secara simultan akan mengakibatkan naiknya air tanah permukaan yang pada akhirnya membasahi bebatuan dan melarutkan garam yang terkandung dalam bebatuan tersebut. Menurut Sataruga *et al.* (2006), terlarutnya garam dari bebatuan pada beberapa area mengakibatkan kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan pada pertumbuhan tanaman akibat peningkatan kandungan garam pada tanah dan air tanah permukaan.

Tanah yang dikategorikan sebagai tanah salin

adalah tanah yang memiliki *electrical conductivity* (EC) 4 dS/m atau lebih (USDA-ARS, 2008) yang setara dengan 40 mM NaCl dan menghasilkan tekanan osmotik sebesar kira-kira 0,2 MPa (Munns and Tester, 2008).  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  merupakan ion yang paling banyak terdapat dalam tanah salin. Ion-ion tersebut merupakan ion yang sangat toksik terhadap sel tumbuhan. Efek toksisitasnya sangat berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan yang memicu produksi rendah sebelum kematian tumbuhan (Cha-um and Kirdmanee, 2009). Tanah salin memberi efek buruk pada tumbuhan melalui dua hal. Pertama, keberadaan ion-ion garam terlarut akan meningkatkan tekanan osmotik di sekitar perakaran tumbuhan. Pada kondisi tersebut penyerapan air oleh akar akan terhambat dan pada akhirnya akan berakibat pada reduksi pertumbuhan akibat menurunnya kemampuan pemanjangan dan pembelahan sel-sel tumbuhan. Kedua, akumulasi ion  $\text{Na}^+$  pada sel dan jaringan tumbuhan mengakibatkan meningkatnya penuaan daun (Munns and Tester, 2008). Selain berpengaruh terhadap pertumbuhan, cekaman salinitas juga berpengaruh terhadap beberapa proses fisiologi diantaranya proses fotosintesis, respirasi dan metabolisme karbohidrat (Soussi *et al.*, 1998).

Beras merupakan bahan pangan pokok untuk lebih dari 3 miliar populasi dunia dan menyediakan 50-80% asupan kalori harian (Khush, 2005). Dengan demikian peningkatan produksi padi sangat penting mengingat pertambahan populasi penduduk yang terus meningkat seiring waktu. Namun usaha ini terkendala oleh ketersediaan lahan akibat konversi lahan-lahan

produktif yang hanya menyisakan lahan-lahan marjina; seperti lahan salin. Padahal padi merupakan tanaman yang tidak dapat tumbuh baik pada tanah salin karena rentan terhadap cekaman salinitas terutama pada fase bibit (*seedling*) dan fase reproduktif (Zeng *et al.*, 2003). Meskipun demikian, menanam padi pada tanah salin masih dimungkinkan dengan menggunakan varietas-varietas yang toleran terhadap cekaman salinitas.

Upaya pengembangan varietas padi toleran salinitas sampai saat ini masih belum optimal karena kurang efektifnya metode pemuliaan konvensional yang digunakan (Borsani *et al.*, 2003). Salah satu strategi alternatif untuk mengatasi kendala tersebut adalah dengan mengembangkan populasi mutan dengan mutasi inseri (Khrisnan *et al.*, 2009), kemudian mengidentifikasi galur-galur mutan potensial, dan dilanjutkan dengan isolasi gen-gen terkait toleransi terhadap cekaman salinitas. Populasi mutan inseri padi Nipponbare telah dikembangkan dengan menggunakan transposon *Ac/Ds* pembawa *activation tag* (Nugroho *et al.*, 2006). Padi Nipponbare dipilih karena padi ini merupakan model tanaman padi dengan informasi sekuens DNA yang lengkap dan tersedia di database dan mudah ditransformasi (Hiei *et al.*, 1994). Penggunaan metode transposon menghasilkan galur mutan dalam jumlah yang besar sehingga diperlukan metode seleksi yang efektif dalam proses skrining terhadap cekaman salinitas. Pada proses seleksi yang melibatkan jumlah galur yang besar, seleksi pada fase vegetatif dilaksanakan untuk memperketat proses seleksi guna menghindari terpilihnya galur yang rentan

Tabel 1. Daftar 33 genotipe mutan yang diseleksi

No	Genotipe	No	Genotipe	No	Genotipe
1	T3.pMO.III.4.4c.2.1	12	T3.pMO.III.4.4c.7.2	23	T3.pMO.VI.63.5b.15.10
2	T3.pMO.VI.30.1a.32.7	13	T3.pMO.VI.1.2a.43.5	24	T3.pMO.VI.30.1a.107.7
3	T3.pMO.VI.63.5a.20.6	14	T3.pMO.VI.30.1a.2U	25	T3.pMO.VI.81.3a.4.4
4	T3.pMO.VI.30.1a.91.5	15	T3.pMO.III.98b.7.10	26	T3.pMO.VI.63.5a.30.9
5	T3.pMO.VI.30.1a.100.8	16	T3.pMO.VI.81.3a.17.3	27	T3.pMO.VI.30.1a.5U
6	T3.pMO.III.98b.11.7	17	T3.pMO.VI.63.5a.33.7	28	F3.PUR.IX.49.2c.1.19.20
7	F3.PUR.XIII.84.1c.4.2	18	F3.PUR.JX.49.1d.1.6.5	29	F3.PUR.X.81.2b.2.2
8	F3.PUR.XIII.84.1c.4.5	19	F3.PUR.K.49.1d.6.1	30	F3.PUR.XIII.84.1c.4.3
9	F3.PUR.X.81.2B.2.2	20	F3.PUR.IX.49.2c.1.19.21	31	F3.PUR.IX.49.2c.1.19.3
10	F3.PUR.K.49.2c.1.19.8	21	F3.PUR.X.81.2B.2.3	32	F4.PUR.VIII.4.1f.(2).1.112.1
11	F3.PUR.VIII.5.1f.1.4.8	22	F3.PUR.K.49.1d.1.6.10	33	F3.PUR.X.81.2B.2.1

(IRRI, 2010). Metode analisis gerombol (*cluster analysis*) merupakan metode yang efektif dalam proses seleksi di fase vegetatif (Cha-um *et al.*, 2010).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi respon galur-galur mutan insersi terhadap cekaman salinitas berdasarkan karakter pertumbuhan dan biokimia.

## BAHANDAN METODE

### Materi genetik

Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 33 galur mutan insersi (Tabel 1) dan Nipponbare wild-type, IR-29, Pokkali yang masing-masing digunakan sebagai kontrol isogenik, kontrol rentan dan kontrol toleran.

### Pengukuran data dan analisis

Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI Cibinong pada bulan Maret-Juni 2010, dalam rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan dengan 5 tanaman/ulangan. Penelitian ini mengikuti protokol IRRI di mana konsentrasi 0 g NaCl/1 digunakan sebagai kontrol dan konsentrasi 6 g NaCl/1 digunakan sebagai perlakuan (Gregorio *et al.*, 1997). Data dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan perbedaan antargenotipe dievaluasi dengan uji selang berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%. Kemudian dilakukan klasifikasi dengan menggunakan *hierarchical cluster analysis* dengan menggunakan SPSS 15 for Windows.

Proses skrining dilakukan berdasarkan protokol IRRI (Gregorio *et al.*, 1997) dengan modifikasi (Situmorang *et al.*, 2010). Benih dikedambahkan dalam air selama 7 hari sebelum dipindahkan ke wadah plastik yang berisi larutan nutrisi (Yoshida *et al.*, 1976). Larutan

nutrisi tersebut diganti setiap minggu. Stereoform yang telah diberi lubang berdiameter 1 cm dan dilapisi kasa pada bagian bawahnya kemudian diletakkan di atas wadah plastik. Stereoform dan kasa berfungsi untuk menahan tanaman agar dapat tumbuh tegak. Inisiasi cekaman dilakukan 14 hari setelah pindah tanam dengan memberikan 3 g NaCl/1 larutan nutrisi. Seminggu kemudian, salinisasi utama dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi garam menjadi 6 g NaCl/1 dan diaplikasikan selama 21 hari. Gejala cekaman salinitas (*salt injury*) diamati pada 10,16 dan 21 hari setelah salinisasi (hss) berdasarkan skor standar evaluasi gejala visual cekaman salinitas pada fase bibit (Gregorio *et al.*, 1997).

Karakter pertumbuhan dan biokimia diamati pada hari ke-21 setelah salinisasi. Karakter pertumbuhan yang diamati adalah tinggi tanaman, panjang akar, bobot segar jerami, bobot segar akar, bobot kering jerami dan bobot kering akar. Karakter pertumbuhan terinduksi cekaman salinitas dihitung dengan rumus:

$$\left(1 - \frac{\text{nilai pertumbuhan pada konsentrasi 6 g NaCl/l}}{\text{nilai pertumbuhan pada konsentrasi 0 g NaCl/l}}\right) \times 100$$

Sedangkan karakter biokimia yang diamati adalah reduksi konsentrasi klorofil a, klorofil b, karotenoid dan akumulasi prolin. Konsentrasi klorofil a [ChlJ dan klorofil b [Chy diukur dengan metode Shabala *et al.* (1998) dan total karotenoid [C<sub>x+c</sub>] diukur berdasarkan metode Lichtenthaler (1987).

$$\begin{aligned} & \text{[ChlJ} = 9.784D_{662} - 0.99D_{645} \\ & \text{[Chl}_b\text{]} = 21.42D_{662} - 4.65D_{645} \\ & \text{-- } \frac{1000D_{470} - 1.90[\text{Chl a}] - 63.14 [\text{CM b}]}{214} \end{aligned}$$

Tabel 2. Skor standar evaluasi visual *salt injury* pada fase vegetatif padi (Gregorio *et al.*, 1997)

Skor	Pengamatan	Ketahanan
1	Pertumbuhan normal tidak ada gejala pada daun	Sangat toleran
3	Pertumbuhan hampir normal tapi ujung daun atau beberapa daun memutih dan menggulung	Toleran
5	Pertumbuhan sangat terhambat, kebanyakan daun menggulung, hanya beberapa yang memanjang	Moderat toleran
7	Pertumbuhan benar-benar terhenti, kebanyakan daun mengering	Rentan
9	Hampir semua tanaman raati atau sekarat	Sangat rentan

Karakter biokimia terinduksi cekaman salinitas dihitung dengan rumus:

$$\left(1 - \frac{\text{nilai karakter biokimia pada konsentrasi 6 g NaCl/l}}{\text{nilai karakter biokimia pada konsentrasi 0 g NaCl/l}}\right) \times 100$$

Kandungan prolin dihitung dengan menggunakan metode Bates *et al* (1973). Daun digerus dengan menggunakan nitrogen cair, 100 mg sampel diekstraksi dengan *sulfosalicylic acid* (3 % w/v). Kemudian 200 µl ekstrak direaksikan dengan 200 µl *acid ninhydrin* dan 200 µl *glacial acetic acid*. Ekstrak diinkubasi pada suhu 95°C selama 1 jam. Setelah itu diletakkan di es untuk menghentikan reaksi. Setelah mencapai suhu ruang, 100 µl hasil reaksi diencerkan dengan 900 µl toluena dan absorbannya dihitung dengan spektrofotometer *UV-visible* pada panjang gelombang 520 nm. Konsentrasi prolin (µg g<sup>-1</sup> bobot segar) dihitung berdasarkan kurva standar. Akumulasi prolin dihitung dengan persamaan:

$$\text{akumulasi prolin} = \frac{\text{nilai prolin pada konsentrasi 6 g NaCl/l}}{\text{nilai prolin pada konsentrasi 0 g NaCl/l}}$$

#### BASIL

Gejala visual cekaman salinitas (*salt injury*)

Skor *salt injury* yang diamati pada 10, 16 dan 21

dijelaskan pada Tabel 3. Sejak awal pengamatan (10 hss), perbedaan signifikan sudah tampak terutama pada kontrol rentan IR 29 dan F3.PUR.X.812b.2.2 yang masing-masing memiliki skor 5,0 dan 4,4 sedang genotipe yang lain memiliki nilai berkisar antara 2, 8 3,8. Pada 16 hss, perbedaan signifikan semakin terlihat Kontrol rentan IR29 dan F3.PUR.X.812b.2.2 memiliki skor 7 sedangkan F3.PUR.IX.49.1d.1.6.5 dan F3.PUR.IX.49.2c. 1.19.8 yang memiliki skor masing-masing 3,4 dan 4,2, menunjukkan respon yang lebih baik dalam cekaman salinitas. Pada pengamatan terakhir (21 hss), Pokkali, T3.PMO.VI.63.5a.33.7 dan F3.PUR.EX.49.1 d. 1.6.5 menunjukkan skor *salt injury* paling rendah. Ketiganya memiliki skor 5. Sedangkan T3.PMO.VL30.1a.51.1 dan F3.PUR.X.81.2b.2.2 memiliki skor *salt injury* paling tinggi yaitu masing-masing 8,2. dan 8,3.

Karakter pertumbuhan

Terdapat perbedaan yang signifikan pada tinggi tanaman di antara genotipe-genotipe yang diamati (Table 4). Genotipe T3.PMO.VI.63.5a.30.9 memiliki reduksi tinggi tanaman terendah yaitu 7,80%; sedangkan genotipe T3.PMO.VI.30.1 a. 100.8 memiliki reduksi tinggi tanaman terbesar yaitu 47,11 %. Adanya tekanan osmotik di sekitar perakaran menimbulkan

Table 3. Skor *salt injury* pada 33 galur mutan yang ditumbuhkan pada larutan nutrisi dengan konsentrasi 6 g<sup>A</sup>NaCl, hari ke 10, 16 dan 21 setelah salinasi.

Genotipe	10 hss	16 hss	21 hss	Genotipe	10 hss	16 hss	21 hss
Nipponbare	3,0ab	5,2bcd	7,8efg	T3.PMO.VL63.5a.33.7	3,4ab	5,0bc	5,0a
T3.PMO.III.4.4c.2.1	3,0ab	5,2bcd	7,0cdef	Pokkali	3,0ab	5,0bc	5,0a
T3.PMO.HI.4. 4c.7.2	3,0ab	5,8cd	7,8efg	F3.PUR.IX.49.2C.1.19.20	3,8abc	5,4bcd	6,3
T3.PMO.VI.63.5b.15.10	4,0b	6,0cde	7,8efg	F3.PURXni.84.1c4.2	3,0ab	5,0bc	5,4ab
T3.PMO.VI.30.1a32.7	3,0ab	5,6cd	7,8efg	F3.PUR.IX.49. Id. 1.6.5	3,0ab	<b>3,4a</b>	5,0a
T3.PMO.VL1.2a43.5	3,0ab	4,8bc	6,2abcd	F3.PUR.X.81.2b.2.2	<b>4,4c</b>	7,0e	8,3g
T3.PMO.VI. 30.1a107.7	3,0ab	5,8cd	7,4defg	F3.PUR.XIII.84.1C.4.5	3,4ab	5,2bcd	6,2abcd
T3.PMO.VI.63.5a20.6	3,4ab	5,8cd	7,4defg	F3.PURK.49.1D.6.1	3,0ab	5,2bcd	6,3abcc
T3.PMO.VI.30.1a21.1	3,0ab	5,0bc	6,2abcd	F3.PURXIII.84.1C.4.3	3,0ab	5,4bcd	6,0abc
T3.PMO.VI.81.3a4.4	3,0ab	5,0bc	5,4ab	F3.PUR.X.81.2B.2.2	3,5abc	5,2bcd	6,0abc
IR-29	<b>5,0d</b>	7,0e	7,0cdef	F3.PUR.IX.49.2C.1.19.21	3,0ab	5,2bcd	6,6bcde
T3.PMO. VI.30.1a.91.5	3,0ab	5,0bc	7,0cdef	F3.PUR.K.49.2C.1.19.8	3,0ab	<b>4,2ab</b>	5,6ab
T3.PMO.m.98b.7.10	3,0ab	5,4bcd	7,0cdef	F3.PUR.IX.49.2C.1.19.3	3,2ab	4,8bc	5,4ab
T3.PMO.VI.63.5a30.9	3,0ab	5,0bc	6,0abc	F3.PUR. X 81.2B. 2. 3	3,6abc	5,0bc	5,8abc
T3.PMO. VI.30.1a100.8	3,6abc	6,0cde	7,3defg	F4.PUR.VIII.4.1f(2).1.112.1	3,2ab	5,4bcd	5,8abc
T3.PMO.VI.81.3a 17.3	3,4ab	6,4de	7,0cdef	F3.PUR.VIII.5.1f.1.4.8	2,8a	5,4bcd	5,3ab
T3.PMO.VI.30.1a51.1	3,2ab	5,8cd	<b>8,1fg</b>	F3.PUR.IX.49.1D.1.6.10	3,2ab	4,8bc	5,4ab
T3.PMO.III.98b.11.7	3,0ab	5,0bc	6,2abcd	F3.PUR.X81.2B.2.1	3,0ab	5,0bc	5,6ab
ANOVA	*	*	**	ANOVA	*	*	**

Keterangan: Huruf yang berbeda pada setiap kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan dengan uji DMRT pada taraf 5%.



respon yang berbeda-beda di antara genotipe-genotipe mutan yang diamati. Beberapa genotipe seperti T3.PMO.VT.30.1a.100.8 dan T3.PMO.VI.30.1a.21.1 memiliki akar yang lebih panjang dalam kondisi cekaman. Kedua genotipe tersebut masing-masing memiliki panjang akar 28,83 dan 25,88% lebih panjang bila dibandingkan dengan panjang akar pada kondisi kontrol. Hal ini diduga akibat tekanan osmotik yang menghambat penyerapan air sehingga menimbulkan reaksi tanaman untuk memanjangkan akar agar bisa

menyerap air lebih banyak. Sebaliknya, genotipe T3.PMO.VI.30.1a.51.1 mengalami reduksi panjang akar sebesar 29,91% pada kondisi perlakuan. Galur rentan IR 29 mengalami reduksi bobot segar jerami dan bobot segar masing-masing sebesar 78,69 dan 59,38 % sedangkan kontrol toleran Pokkali mengalami reduksi masing-masing sebesar 54,08 dan 59,20 % (Tabel 4).

Pada karakter bobot segar jerami, genotipe T3.PMO.VI.30.1a.21.1 memiliki nilai reduksi paling rendah yaitu 30,00 % sedangkan genotipe

Tabel 4. Pertumbuhan terinduksi cekaman pada 33 genotipe mutan yang ditumbuhkan pada larutan nutrisi dengan konsentrasi 6 g NaCl/l

Genotipe	Pertumbuhan terinduksi (%)					
	TT	PA	BSJ	BSA	BKJ	BAK
Nipponbare wild type	17,12cd	8,04efg	45,40cd	45,23fghijkl	76,93q	69,02pq
T3.PMO.III.4.4c.2.1	30,65lmn	-4,46bc	68,10hij	25,03bcde	56,22lmno	49,94jklmn
T3.PMO.m.4. 4c.7.2	43,47o	8,46efg	83,94l	65,20mn	77,52q	75,45q
T3.PMO.VL63. 5b. 15. 10	30,07klm	-10,48b	79,01kl	52,80ijklm	69,66pq	50,67jklmn
T3. PMO. VI. 30. 1a. 32. 7	25,26hijk	-6,39b	79,64kl	36,94defgh	50,68klm	46,58hijklmn
T3. PMO. VI. 1. 2a 43. 5	25,50hijkl	2,62de	67,54hij	39,38efghi	55,1 limn	42,98ghijklm
T3. PMO. VI. 30. 1a. 107. 7	29,88klm	4,95def	79,13kl	36,75defg	64,26nop	41,73ghijkl
T3. PMO. VI. 63. 5a. 20. 6	33,83mn	-6,98b	79,80kl	56,56jklmn	65,93nopq	50,12jklmn
T3. PMO. VI. 30. 1a. 21. 1	12,85bc	-25,88a	30,00a	-9,29a	4,75a	-11,92a
T3. PMO. VI. 81. 3a. 4. 4	24,19ghij	-7,99b	51,32def	16,64bc	36,97efghij	19,25c
IR-29	35,54n	16,69hij	78,69kl	59,38klmn	68,02opq	71,02q
T3.PMO.VI. 30. 1a. 91.5	29,45jklm	8,43efg	68,25ij	49,09ghijkl	62,10mnop	53,72klmn
T3. PMO. III. 98b. 7. 10	22,05defgh	18,13ijk	55,18efg	43,99fghijk	44,94ijkl	56,77no
T3. PMO. VI. 63. 5a. 30. 9	7,80a	2,61de	41,05bc	-20,93a	27,39cdef	15,76bc
T3. PMO. VI. 30. 1a. 100. 8	47,11o	-28,83a	64,70hi	52,59hijklm	66,61nopq	55,30mno
T3. PMO. VI. 81.3a. 17.3	23,75ijkl	21,79jk	54,04efg	47,85ghijkl	38,51efghij	36,53fghi
T3. PMO. VI. 30. 1a. 51. 1	31,29mn	29,91l	77,09kl	69,09n	60,72mnop	66,16opq
T3.PMO. III. 98b. 11.7	32,06mn	19,40jk	68,10hij	52,95ijklm	55,37lmn	58,88nop
T3. PMO. VI. 63. 5a. 33. 7	11,17ab	-9,45b	34,65ab	-15,43a	15,95bc	6,08b
Pokkali	18,63def	23,80k	54,08efg	59,20klmn	44,67hijkl	58,83 nop
F3. PUR. DC 49. 2c. 1. 19.20	25,22hijk	8,1 lefg	62,33ghi	19,21 be	45,59ijkl	41,32ghijk
F3.PUR.Xfll. 84. 1c.4.2	24,50ghij	-7,33b	59,47fgh	15,44b	37,17efghij	33,15efg
F3. PUR. DC 49. Id. 1. 6. 5	24,44ghij	0,89cd	47,55cde	43,24fghij	26,94bcde	20,93cd
F3.PUR.X. 81.2b .2.2	29,01ijklm	9,97fg	75,18jk	26,30bcde	61,40mnop	52,93klmn
F3. PUR. XIII. 84.1C.4.5	25,93hijkl	9,5 lfg	61,03ghi	19,97bc	39,43fghijk	34,94fgh
F3.PUR. DC 49. ID. 6.1	23,26efgh	8,52efg	61,00ghi	31,69cdef	37,30efghij	46,38hijklmn
F3.PUR.Xm.84. 1C. 4.3	21,82defgh	12,20ghi	49,87de	-15,41a	26,41bcde	21,52cde
F3. PUR .X. 81. 2B. 2. 2	31,94mn	18,13ijk	67,40hij	42,58fghij	30,66defg	52,67klmn
F3.PUR. DC 49. 2C. 1.19.21	24,76ghijk	7,5 lefg	66,15hi	22,16bcd	51,38klm	49,47jklmn
F3. PUR. DC 49. 2C. 1. 19. 3	20,41defgh	5,46defg	51,22def	17,50bc	22,85bcd	24,42cdef
F3. PUR. DC 49. 2C. 1. 19. 8	22,86efgh	11,10fgh	54,10efg	47,53ghijkl	35,04efghi	34,56fgh
F3. PUR. X. 81. 2B. 2. 3	21,07defgh	19,07jk	49,93de	52,72ijklm	32,66defgh	48,51ijklmn
F4.PUR.VIII.4.1f(2).1.112.1	30,00klm	9,77fg	62,41ghi	60,52lmn	42,17ghijk	46,27hijklmn
F3. PUR. VIII. 5. If. 1. 4. 8	18,1 Ode	16,79hij	40,32bc	44,66fghijkl	15,60b	31,59defg
F3. PUR. DC 49. ID. 1.6.10	24,69ghijk	18,23ijk	61,43ghi	59,28klmn	47,62jkl	54,76lmno
F3. PUR. X. 81. 2B. 2. 1	19,50defg	8,47efg	51,83def	50,30ghijklm	42,09ghijk	38,39ghij
ANOVA	**	**	**	**	**	**

Keterangan: Huruf yang berbeda pada setiap kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan dengan uji DMRT pada taraf 5 %. Singkatan: TT: tinggi tanaman, PA: panjang akar, BSJ: bobot segar jerami, BSA: bobot segar akar, BKJ: bobot kering jerami, BKA: bobot kering akar.

T3.PMO.III.4.4c.7.2 memiliki nilai reduksi tertinggi yaitu 83,94%. Beberapa genotipe mengalami peningkatan bobot segar akar dalam kondisi perlakuan di antaranya T3.PMO.VI.63.5a.30.9, T3.PMO.VI.63.5a.33.7, F3.PUR.XIII.84.1c.4.3 dan T3.PMO.VI.30.1a.21.1 dengan masing-masing 20,93,15,42,15,40 dan 9,29% lebih berat dibandingkan pada kondisi kontrol. Hal ini terjadi diduga akibat reaksi tanaman yang memanjangkan atau memperbanyak jumlah agar mampu mengimbangi tekanan osmotik yang tinggi sehingga tetap mampu menyerap air. Sedangkan

T3.PMO.III.4.4c.7.2 mengalami reduksi bobot segar akar tertinggi yaitu 77,51%. Genotip T3.PMO.VI.30.1a.21.1 mengalami reduksi bobot kering jerami yaitu sebesar 4,75% sedangkan T3.PM.III.4.4c.7.2 mengalami reduksi terbesar yaitu sebesar 77,51%. Pada kondisi perlakuan, genotipe T3.PMO.VI.30.1a.21.1 mengalami peningkatan bobot kering akar sebesar 11,91% sedangkan genotipe T3.PMO.III.4.4c.7.2 mengalami reduksi bobot kering akar terbesar yaitu sebesar 74,44%.

Tabel 5. Degradasi klorofil a (Chi a), klorofil b (Chi b), karotenoid (C<sub>x+c</sub>) dan akumulasi prolin pada 33 genotipe mutan yang ditumbuhkan pada larutan nutrisi dengan konsentrasi 6 g NaCl/l.

Genotipe	Chi a	Chi/b	C <sub>x+c</sub>	Akumulasi prolin
Nipponbare	36,07ghijklm	16,76ab	30,27defg	12,23abcd
T3. PMO. III. 4. 4c. 2. 1	20,64abcdefg	36,92abcde	26,77defg	52,91i
T3. PMO. ffl. 4. 4c. 7. 2	41,44ijklmn	41,52abcde	42,21e	14,38abcd
T3. PMO. VI. 63. 5b. 15.10	21,06abcdefg	51,07cde	31,86defg	41,97fghi
T3. PMO. VI. 30. 1a. 32. 7	51,33lmn	44,26abcde	27,45defg	39,32efghi
T3. PMO. VI. 1. 2a. 43. 5	6,48abc	14,61a	6,66abcdef	49,53hi
T3. PMO. VI. 30. 1a. 107. 7	36,63ghijklm	39,76abcde	35,33fg	44,19ghi
T3. PMO. VI. 63. 5a. 20. 6	43,68klmn	40,10abcde	41,37g	30,74cdefghi
T3.PMO.VL30. 1a. 21. 1	5,07ab	19,15abc	-6,22ab	29,41 bedefghi
T3. PMO. VI. 81. 3a. 4. 4	4,05ab	30,65abcde	34,01efg	16,77abcde
K-29	54,99mn	56,10abcde	41,87g	53,33i
T3. PMO. VL 30. 1a. 91. 5	19,60abcdefg	25,86abce	26,58defg	26,21 abedefgh
T3. PMO. ffl. 98b. 7.10	41,61ijklmn	43,43abcde	29,63defg	32,62defghi
T3. PMO. VI. 63. 5a. 30. 9	8,91abcd	12,32a	5,99abcde	6,75abc
T3. PMO. VL 30. 1a. 100. 8	30,20efghijk	27,00abcd	30,1ldefg	11,93abcd
T3. PMO. VI. 81. 3a. 17. 3	14,71abcdef	16,45de	-5,15abc	45,33ghi
T3.PMO.VI. 30. 1a.51.1	60,52n	55,92abcd	26,07defg	22,21 abcdefg
T3. PMO. ffl. 98b. 11.7	21,73abcdefghi	28,27abcd	13,72abcdegr	20,10abcdef
T3. PMO. VI. 63. 5a. 33. 7	16,81abcdefg	15,99ab	7,21abcdef	49,86hi
Pokkali	20,24abcdefg	25,67abcd	7,99abcdef	6,37abc
F3.PUR. DC. 49.2c. 1. 19.20	38,73hijklm	35,57abcde	19,10bcdefg	9,06abcd
F3. PUR. XIU. 84. 1c. 4. 2	31,80fghijkl	34,51abcde	15,33abcdefg	16,07abcde
F3. PUR. DC. 49. Id. 1.6.5	10,39abcde	18,61abc	-9,16ab	5,68ab
F3.PUR. X. 81.2b .2 .2	23,67bcdefghijk	29,81abcde	19,62cdefg	9,26abcd
F3. PUR. Xffl .84 .1C .4 .5	7,55abc	15,99ab	-10,93a	14,25abcd
F3. PUR. DC. 49. ID. 6 .1	32,04fghijkl	26,68abcd	11,82g	18,49abcdef
F3.PUR.Xin.84.1C.4.3	43,08ijklmn	49,14bcde	20,26cdefg	30,41 bedefghi
F3. PUR. X. 81.2B. 2.2	27,98defghijk	31,45abcde	3,07abcd	19,44abcdef
F3.PUR.DC. 49. 2C.1 .19.21	52,57mn	62,71e	10,13abcdef	25,08abcdefg
F3.PUR.DC.49.2C. 1.19. 3	29,78efghijk	35,10abcde	15,22abcdefg	10,67abcd
F3. PUR. DC. 49. 2C. 1.19. 8	23,34bcdefghij	25,43abcd	24,74defg	9,80abcd
F3.PUR.X. 81.2B.2.3	29,59efghijk	33,75abcde	31,67defg	15,79abcde
F4.PUR.Vffl. 4. If.(2).1.112.1	2,15a	12,51a	7,63abcdef	12,10abcd
F3. PUR. VIII. 5. If. 1.4. 8	14,50abcdef	14,03a	13,31abcdefg	10,99abcd
F3.PUR.DC. 49. ID. 1.6.10	25,45cdefghijk	22,42abcd	34,30efg	2,55a
F3. PUR. X. 81.2B. 2. 1	22,81bcdefghij	25,59abcd	14,56abcdefg	6,48abc
ANOVA	**	**	*	*

Keterangan: Huruf yang berbeda pada setiap kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan dengan uji DMRT pada taraf 5 %



F3.PUR.VIII.5.1f.1.4.8 termasuk kandidat genotipe toleran cekaman salinitas. Sebaliknya, genotipe T3.PMO.111.4.4c.7.2, T3.PMO.VI.30.1a.51.1, T3.PMO.VI.63.5b.15.10 dan T3.PMO.VI.63.5a.20.6 termasuk kandidat gentipe rentan cekaman salinitas.

## PEMBAHASAN

Bila hanya dilihat berdasarkan skor *salt injury*, genotipe T3.PMO.VI.30.1a.51.1 dan F3.PURX81.2b.2.2 termasuk ke dalam kelompok yang paling rentan terhadap cekaman salinitas sedangkan genotipe T3.PMO.VI.63.5a.33.7 dan F3.PUR.IX.49.1d.1.6.5 termasuk kelompok yang paling toleran terhadap cekaman salinitas (Tabel 3). Klasifikasi toleransi terhadap cekaman salinitas tidak semata-mata hanya berdasar skor pengamatan visual saja yang kadang bersifat subjektif. Banyak hal lain yang harus dipertimbangkan karena mekanisme toleransi terhadap cekaman salinitas merupakan hal yang kompleks (Flowers, 2004).

Cekaman salinitas merusak tanaman melalui dua hal secara simultan yaitu peningkatan tekanan osmotik dan toksifikasi ion  $\text{Na}^+$ . Efek tekanan osmotik tinggi menyebabkan sel kehilangan tekanan turgid sehingga pemanjangan dan pembelahan sel terhambat dan pada akhirnya akan menghasilkan daun dan tanaman yang lebih kecil (Munns and Tester, 2008). Selanjutnya efek toksisitas ion  $\text{Na}^+$  merusak fungsi sel karena menghambat fungsi enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme dan juga mengganggu proses fotosintesis (Munns and Tester, 2008). Demikian juga menurut Bremont *et al.* (2006), pertumbuhan yang terhambat bahkan kematian tanaman disebabkan oleh kurangnya air yang dapat diserap, akumulasi ion  $\text{Na}^+$  dan ketidakseimbangan ion mengakibatkan perubahan morfologi (akar dan daun yang pendek), fisiologi (terhambatnya aktivitas berbagai enzim) dan metabolisme (proses fotosintesis terhambat). Seperti terlihat pada galur T3.PMO.III.4.4c.7.2 yang termasuk kelompok rentan, mengalami reduksi tinggi tanaman, **berat segar jerami**, **berat segar akar** masing-masing sebesar 43,37, 83,94 dan 65,20 % (Tabel 4). Pada kontrol rentan IR29 terjadi reduksi tinggi tanaman dan panjang akar masing-masing sebesar 35,54 dan 16,69 % sedangkan pada kontrol toleran Pokkali terjadi reduksi

tinggi tanaman dan panjang akar masing-masing sebesar 18,63 dan 23,80 % (Tabel 4). Di antara galur galur mutan, galur T3.PMO.VI.63.5a.30.9 yang termasuk kelompok toleran memiliki reduksi terkecil yaitu masing-masing sebesar 7,80 dan 2,6 % (Tabel 4). Penelitian oleh (Chaum *et al.* 2009) menyatakan bahwa galur padi Jasmine (rentan salinitas) memiliki tinggi tanaman, bobot jerami basah dan bobot jerami kering yang lebih rendah dibandingkan galur padi Homjan (toleran salinitas).

Degradasi pigmen merupakan salah satu indikator efektif dalam pengamatan respon tanaman terhadap cekaman salinitas (Cha-um and Kirdmanet 2009) sehingga degradasi pigmen dapat digunakan dalam proses skrining terhadap cekaman salinitas. Galur T3.PMO.VI.30.1a.21.1 dan T3.PMO.VI.63.5a.30.9 yang tergolong kelompok toleran memiliki degradasi klorofil a dan b rendah yaitu masing-masing sebesar 5,07 dan 19,15 % serta 8,9 dan 12,32 % (Tabel 5). Tanaman yang mampu mempertahankan konsentrasi pigmen dalam cekaman salinitas mampu tumbuh lebih baik dibandingkan dengan tanaman yang mengalami degradasi pigmen yang besar (Cha-um *et al.*, 2010). Karotenoid juga berperan penting dalam mekanisme toleransi terhadap cekaman. Menurut Havaux *et al.* (1998), karotenoid memiliki peran penting dalam fotosintesis untuk menyerap energi sinar hijau yang banyak terdapat dalam sinar matahari namun tidak dapat diserap oleh klorofil. Kemudian karotenoid akan mentransfer energi tersebut ke klorofil sehingga proses fotosintesis akan lebih efisien. Selain itu karotenoid juga berfungsi melindungi formasi klorofil dan kerusakan. Galur T3.PMO.VI.63.5a.30.9 (kelompok toleran) mengalami degradasi konsentrasi karotenoid sebesar 5,99% sedangkan kontrol toleran Pokkali dan kontrol rentan IR 29 mengalami reduksi konsentrasi karotenoid sebesar 7,99 dan 41,87% (Tabel 5).

Tanaman memiliki respon molekuler yang kompleks dalam sistem pertahanan terhadap cekaman salinitas termasuk akumulasi metabolit sekunder produksi protein tertentu dan ekspresi beberapa gen (Bremont *et al.* 2006). Sudah diketahui secara luas bahwa salah satu respon paling umum tanaman terhadap cekaman salinitas adalah akumulasi prolin pada jaringan. Menurut Ashraf and Foolad (2007)



akumulasi prolin merupakan reaksi pertama tanaman untuk mencegah kerusakan sel akibat cekaman salinitas. Pada umumnya tanaman yang memiliki ketahanan toleran cekaman salinitas akan mengakumulasi prolin dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan tanaman yang rentan. Pada kondisi tercekam, galur T3.PMO.VI.63.5a.30.9 dan F3.PUR.IX.49. Id. 1.6.5 (kelompok toleran) mengalami akumulasi prolin masing-masing sebesar 6,75 dan 5,68 kali sedangkan Pokkali dan IR 29 mengakumulasi prolin masing-masing sebanyak 6,37 dan 53,31 kali dibandingkan konsentrasi pada kondisi kontrol (Tabel 5).

Galur-galur yang memiliki nilai tinggi pada parameter tertentu belum tentu termasuk dalam kelompok toleran atau rentan salinitas karena klasifikasi dengan menggunakan metode *cluster analysis* tidak memfokuskan pada satu peubah tertentu melainkan penggabungan semua parameter yang diamati. Menurut Cha-um *et al.* (2010) metode ini mampu secara baik mengklasifikasikan galur-galur padi yang toleran dan rentan terhadap cekaman salinitas. Pada klasifikasi akhir (Gambar1), galur T3.PMO.VI.63.5a.33.7 dan F3.PUR.IX.49.1 d. 1.6.5 yang memiliki nilai skor *salt injury* 5 termasuk ke dalam kelompok toleran sedangkan F3.PUR.IX.49. ID. 1.6.10 yang memiliki *salt injury* 5,4 (Tabel 3) tidak termasuk ke dalam kelompok toleran. Ini dikarenakan galur F3.PUR.IX.49.ID. 1.6.10 memiliki nilai yang rendah pada parameter-parameter lain seperti reduksi bobot segar jerami dan bobot segar akar yang masing-masing mencapai 61,43 dan 59,28 % (Tabel 4). Sebaliknya, meskipun galur F3.PUR.X.81.2b.2.2 memiliki skor *salt injury* 8,3, galur tersebut tidak tergolong ke dalam kelompok rentan karena memiliki nilai yang tinggi pada beberapa parameter seperti reduksi tinggi tanaman dan panjang akar yang masing-masing sebesar 31,94 dan 18,13 % (Tabel 4) serta akumulasi prolin yang cukup rendah yaitu sebesar 9,26 kali (Tabel 5).

## KESHMPULAN

Hasil analisis *hierarchical cluster* berdasarkan kombinasi semua karakter pertumbuhan dan biokimia menunjukkan bahwa galur T3.PMO.VI.30.1a.21.1, T3.PMO.VI.63.5a.33.7, F3.PUR.IX.49. id. 1.6.5, T3.PMO.VI.63.5a.30.9, T3.PMO.VI.81.3a.4.4,

F3.PUR.IX.49.2c1.19.8 dan F3.PUR.VIII.5.1f.1.4.8 teridentifikasi toleran cekaman salinitas sedangkan genotipe T3.PMO.III.4.4c.7.2, T3.PMO. VI.30. 1a.51.1, T3.PMO.VI.63.5b.15.10 dan T3.PMO.VI.63.5a.20.6 teridentifikasi rentan cekaman salinitas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ashraf MM and R Foolad 2007. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experiment Botany* **59**, 206-216.
- Bates LS, RP Warden and ID Teare 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* **39**, 205-207.
- Borsani O, V Valvuesta and MA. Botella 2003. Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **73**, 101-115
- Bremont JFJ, AB Flora, EH Lucero, MR Kessler, JAA Gallegos and JGR Pimentel 2006. Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. *Biologia Plantarum* **50**(4), 763-766
- Cha-um S and C Kirdmanee 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. *Agricultural Science China* **8**(1), 51-58.
- Cha-um S, T Trakulyingcharoen, P Smitamana and C Kirdmanee. 2009. Salt tolerance in two rice cultivars differing salt tolerant abilities in responses to iso-osmotic stress. *Australian Journal of Crop Science* **3**(4), 221-230
- Cha-um S, M Ashraf and C Kirdmanee 2010. Screening upland rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica) genotypes for salt-tolerance using multivariate cluster analysis. *African Journal of Biotechnology* **9**(30), 4731-4740
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2008. *FAO Land and Plant Nutrition Management Service*, <http://Avwww.fao.org/ag/agl/agll/spush> (accessed: May 11, 2009).
- Flowers TJ. 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany* **55**, 307-319.
- Gregorio GB, O Senadhira and RD Mendoza 1997. IRRI Discussion Paper Series No. 22.
- Havaux M, F Tardy and Y Lemoine 1998. Photosynthetic light-harvesting function of carotenoids in higher-plant leaves exposed to high light irradiances. *Planta* **205**, 242-250.
- Hiei Y, S Otha, T Komari and T Kumashiro 1994. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *The Plant Journal* **6**(0), 001-011
- IRRI (International Rice Research Institute). 2010. Salt-tolerance Rice, <http://beta.irri.org/projects15/en/stresses/salt-tolerant-rice> (Accessed: 15 Des 2010).
- Khush GS. 2005. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. *Plant Molecular Biology* **59**, 1-6.
- Krshnan A, E Guiderdoni, G An, YC Hsing, C Han, MC Lee, SM Yu, N Ilpadhygya, S Ramachandran, Q Zhang, V Sundareian, H Hlochlka, H Leungand A Perelra. 2009. Mutant Resources in Rice for Functional Oenomics of the Grasses, *Plant Physiology*

- 149, 165-170
- Lichtenthaler HK. 1987.** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology* **148**, 350-380.
- Munns R and M Tester 2008.** Mechanism and salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* **59**, 651-681.
- Nugroho S, KR Trijatmiko, S Rachmawati, A Zannati dan S Purwantomo. 2006.** Upaya pengembangan populasi *mutagenic lines* padi pembawa *activation tag* dengan transposon *Ac/Ds* melalui transformasi dengan *Agrobacterium*. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi*, 15-16 November 2006, 236-242.
- Satarugsa P, W Youngmee and S Meesawat. 2006.** The three-year mapping and monitoring of underground cavity expansion with 2D resistivity survey: what has revealed? In: Wang, J., Xu, Y., Xia, J., and Chen, C. (Eds.), *Proceeding of the 2<sup>nd</sup> International Conference on Environmental and Engineering Geophysics (ICEEG 2006)*, 4-9 June 2006, 265-269. Wuhan, China.
- Shabala SN, SI Shabala, AI Martynenko, O Babourina and IA Newman 1998.** Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na<sup>+</sup> accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: a comparative survey and prospects for screening. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**, 609-616.
- Situmorang A, A Zannati, D Widyajayantie dan S Nugroho. 2010.** Seleksi genotipe padi mutan insersi toleran cekaman salinitas berdasarkan karakter pertumbuhan dan biokimia. *Jurnal Agronomi Indonesia* **38(1)**, 8-14
- Soussi M, A Ocana and C Lluch 1998.** Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Experimental Botany* **49**, 1329-1337.
- Szabolcs I. 1989.** *Salt-Affected Soils*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- USDA-ARS. 2008.** Research Databases. *Bibliography on Salt Tolerance*. George E. Brown, Jr. Salinity Lab. US Dept. of Agric., Agric. Res. Serv. Riverside, CA. <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=89>; (accessed: May 11, 2009)
- Yoshida S, DA Forno, JH Cock and KA Gomez 1979.** *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. International Rice Research Institute, Manila.
- Zeng L, SM Lesch and CM Grieve 2003.** Rice growth and yield respond to changes in water depth and salinity stress. *Agricultural Water Management* **59**, 67-75.